

红叶石楠离体快繁技术体系的建立与优化

侯春燕, 任丽梅, 张洁, 王冬梅

(河北农业大学 生命科学院, 河北 保定 071001)

摘要: 以红叶石楠茎尖为外植体, 探讨不同植物激素 6-BA、IBA、NAA 的浓度对试管苗增殖以及植株再生的影响, 建立了一套红叶石楠离体培养技术体系。试验结果表明: 红叶石楠初代培养采用 MS+6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 培养基、茎尖继代培养采用 MS+6-BA 2.0 mg/L 和 NAA 0.1 mg/L 的培养基为宜, 通过正交试验确定, 植株增高选用 MS+6-BA 1.0 + IBA 0.2 mg/L + NAA 0.2 mg/L 的培养基效果较好, 生根培养选用 1/2MS+IBA 1.0~1.5 mg/L 培养基, 生根率、移栽成活率可达 100%。

关键词: 红叶石楠; 组织培养; 正交试验; 快速繁殖

中图分类号: S 336

文献标识码: A

Establishment and optimization *Photinia fraseri* rapid propagation system

HOU Chun-yan, REN Li-mei, ZHANG Jie, WANG Dong-mei

(College of Life Science, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

Abstract: Using the stem segment with single bud as the explant, this paper probes into the effects of different concentration 6-BA, NAA, IBA on proliferation and plantlet regeneration of *Photinia fraseri*. The results showed that the appropriate medium for bud induction is MS+6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L, the medium of multiplication is MS+6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L. Using orthogonal tests to determine the medium for plant grow is MS+6-BA 1.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L + NAA 0.2 mg/L, and the medium of rooting is 1/2 MS + IBA 1.0~1.5 mg/L, with up to 100% survival rate.

Key words: *Photinia fraseri*; tissue culture; orthogonal tests; plantlet rapid propagation

红叶石楠(*Photinia f. raseri*)为蔷薇科、石楠属常绿小乔木,属普通石楠的园艺变种,因其新梢和嫩叶鲜红而得名。春秋两季,红叶石楠的新梢和嫩叶火红,色彩艳丽持久,极具生机,是重要的园林绿化常绿树种。我国红叶石楠引自国外,资源稀少,且红叶石楠为杂交种,至今未见有结实的报道^[1]。生产上多数采用扦插繁殖,但繁殖系数低,黄美娟^[1]、段祖安^[2]等对红叶石楠进行组织快繁研究,但在增殖和生根培养中只对少数激素不同水平进行了研究,还有待于进一步探讨多种激素对红叶石楠增殖的影响,建立高效的再生体系。本研究以红叶石楠茎尖为试材,优化离体快繁技术体系,并首次通过正交分

析探讨不同激素对红叶石楠植株增高的影响,旨在为红叶石楠离体诱变和生产应用打下良好的基础。

1 材料和方法

1.1 材料

红叶石楠茎尖及叶片,取自保定市光大园艺公司苗圃场。

1.2 方法

1.2.1 培养条件 MS 培养基,附加 3% 蔗糖,0.7% 琼脂。pH 为 5.8~6.0,光照 12 h,培养温度 (25±2)℃,光照强度 2 000 lx。

1.2.2 材料处理 切取 1 年生红叶石楠枝条上的

收稿日期: 2006-03-19

基金项目: 河北农业大学校青年基金 2004

作者简介: 侯春燕(1970-),河北沧州人,副教授,研究方向:植物生理生化

茎尖及幼嫩叶片,流水冲洗 3~4 h,吸干表面水分。以 70%酒精浸泡 10~20 s,再用 0.15%的升汞溶液浸泡 6~10 min,无菌水冲洗 5~6 遍。

1.2.3 正交试验^[3] 将红叶石楠茎尖接入附加不同种类、浓度激素的培养基中。试验方案按 L8(2³)正交设计^[3](表 1)。

表 1 正交表
Table 1 The orthogonal table

A	B	A×B	C	A×C	B×C
1	1	1	1	1	1
1	1	1	2	2	2
1	2	2	1	1	2
1	2	2	2	2	1
2	1	2	1	2	1
2	1	2	2	1	2
2	2	1	1	2	2
2	2	1	2	1	1

注:A 为 6-BA 2 个水平 0.1 mg/L,0.2 mg/L;B 为 IBA 2 个水平浓度 0.1 mg/L, 0.2 mg/L;C 为 NAA 2 个水平浓度 0.1 mg/L, 0.2 mg/L;×:代表互作

1.2.4 IBA 生根试验 取继代培养所得 3 cm 以上试管苗,接种到附加不同浓度 IBA 的 1/2 MS 培养基中。每个处理接种 12 株,培养时间 60 d。成活后对其进行炼苗、移栽。

2 结果与分析

2.1 不同灭菌时间对红叶石楠成活率的影响

本试验结果表明,红叶石楠茎尖培养灭菌时间以 10 min 为宜,污染率与枯死率降到最低,成活率最高可达 76.7%(见图 1)。灭菌时间短,枯死率低,污染率却大大提高,从而成活率降低,灭菌时间过长,污染率明显降低,但枯死率升高,成活率同样也降低。

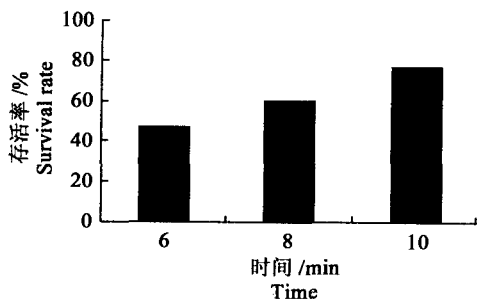


图 1 不同消毒时间茎尖影响

Fig.1 The effect of different sterilization time on stem apex

2.2 初代接种芽生长情况

初代培养 40 d 左右,部分茎尖可直接诱导产生丛生芽,部分茎尖伸长基部膨大,长出一团质地较硬的愈伤组织,附加 6-BA 1.0 mg/L 和 NAA 0.1 mg/L 的 MS 培养基中不定芽的出芽率最高,达到 63.30%(表 2)。

表 2 初代接种出芽率

Table 2 The bud ratio of first generation

处理 Treatments	6-BA 浓度/ (mg·L ⁻¹) Concentration of 6-BA	NAA 浓度/ (mg·L ⁻¹) Concentration of NAA	出芽数 Numbers of buds	出芽率/% Bud ratio
1	1.0	0.1	19	63.30
2	1.0	0.2	10	33.30
3	1.0	0.5	2	6.67
4	2.0	0.1	13	43.30
5	2.0	0.2	7	23.30
6	2.0	0.5	1	3.33
7	4.0	0.1	14	46.70
8	4.0	0.2	7	23.30
9	4.0	0.5	1	3.33

注:初代接种每种处理接种 30 个茎尖。

2.3 不同激素比对红叶石楠不定芽诱导的影响

红叶石楠茎尖继代培养以附加 6-BA 2.0 mg/L 和 NAA 0.1 mg/L 的 MS 培养基为宜(表 3)。

表 3 芽的继代培养

Table 3 Subculture of buds

处理 Treatments	6-BA 浓度/ (mg·L ⁻¹) Cncentration of 6-BA	NAA 浓度/ (mg·L ⁻¹) Concentration of NAA	分化状况 Conditions of cell differentiation
1	1.0	0.1	少量丛生芽
2	2.0	0.1	大量丛生芽
3	4.0	0.1	基部长出愈伤,无芽丛形成

2.4 不同激素对石楠植株生长的影响

2.4.1 6-BA 对石楠植株生长的影响 在附加 6-BA(1~5 mg/L)的培养基上,红叶石楠植株增高均高于对照,当 6-BA 浓度为 1~2 mg/L 时植株生长快速,当 6-BA 的浓度达到 3 mg/L 以上时,植株的增高不明显。随着激素浓度的增加植株的增长速度逐渐变慢(图 2)。

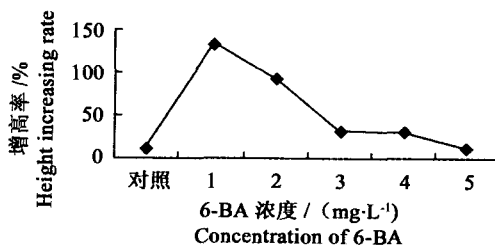


图 2 6-BA 对植株增高率的影响

Fig.2 The effect of 6-BA on plant height increasing rate

2.4.2 IBA 对石楠植株的影响 IBA 浓度为 1~2 mg/L 时会显著促进红叶石楠植株的增高。但当 IBA 浓度大于等于 3 mg/L 时会明显抑制植株的增高(图 3)。

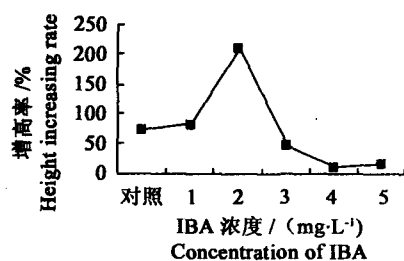


图3 IBA对植株增高率的影响
Fig.1 The effect of IBA on plant height increasing rate

在试验中观察到,较低浓度的IBA可以显著的诱导红叶石楠生根。多数植株附加IBA水平在1~2 mg/L的培养基上培养30 d时已生根,而在IBA浓度为3~5 mg/L的培养基上的红叶石楠均生根。到50 d左右时会在基部长出来多条很细的小根。

2.4.3 NAA对石楠植株的影响 0.1~0.5 mg/L的NAA均对石楠植株的增长有促进作用(图4)。

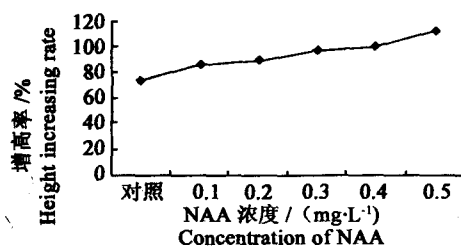


图4 NAA对植株增高率的影响
Fig.4 The effect of NAA on plant height increasing rate

NAA同IBA类似,其显著的特点是可以诱导红叶石楠生根。

在试验中发现,红叶石楠植株在培养30~50 d时增高最明显。且对照组红叶石楠植株茎基部没有愈伤组织产生,而附加上述任何激素,都会在基部产生愈伤组织。说明上述激素在一定程度上可以诱导红叶石楠愈伤组织生成。

2.5 正交试验分析

由表4可见,IBA的级差位于第一位,是影响红叶石楠增高率的关键因子。其次是BA与IBA的互作,而BA与NAA的互作极小。根据各实验因子的平均数可以看出A因素,B因素,C因素都取第2水平为好。即石楠增长的最好方式为BA 2.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L + NAA 0.2 mg/L。直观分析(组合平均数) $A1B1 = (0.48 + 0.52)/2 = 0.50$ $A1B2 = (1.11 + 1.25)/2 = 1.18$ $A2B1 = (0.94 + 0.94)/2 = 0.94$ $A2B2 = (0.95 + 1.16)/2 = 1.06$ 由此可知A1B2(BA 1.0 mg/L + IBA 0.2 mg/L + NAA 0.2 mg/L)处里最好,也是8个处理中植株增长最高的组合。IBA影响红叶石楠增高率达极显著水平($P < 0.01$)BA及BA×IBA为显著水平(表5)经方差分析(F测验)和显著性测验表明IBA与其余组合比较达显著水平,BA以及BA与IBA的互作在达显著水平($P < 0.05$)。

表4 正交分析表
Table 4 The orthogonal analytical table

水平列 处理 Treatments	1 A	2 B	3 A×B	4 C	5 A×C	6 B×C	增高率 % Height increasing rate
1	1	1	1	1	1	1	0.48
2	1	1	1	2	2	2	0.52
3	1	2	2	1	1	2	1.11
4	1	2	2	2	2	1	1.25
5	2	1	2	1	2	1	0.94
6	2	1	2	2	1	2	0.94
7	2	2	1	1	2	2	0.95
T1	3.36	2.88	3.11	3.48	3.69	3.83	1.16
T2	3.99	4.41	4.24	3.87	3.66	3.52	7.35
平均 X1	0.84	0.72	0.78	0.87	0.9225	0.96	
平均 X2	1.00	1.12	1.06	0.97	0.915	0.88	
R	-0.16	-0.40	-0.28	-0.10	-0.0075	0.08	

2.6 IBA对生根的影响

由图5(从左到右IBA浓度依次为0.5,1,1.5,2,2.5 mg/L)可见,石楠在IBA浓度为1 mg/L,

1.5 mg/L时生根长且粗壮,生根率达80%以上(图6)。随着激素浓度的增高石楠根变短变细成须根状,易掉,且在移栽时培养基不易洗净,成活率很低。



图5 不同浓度 IBA 处理下极生长情况
Fig.5 The condition of root growth under different concentration of IBA

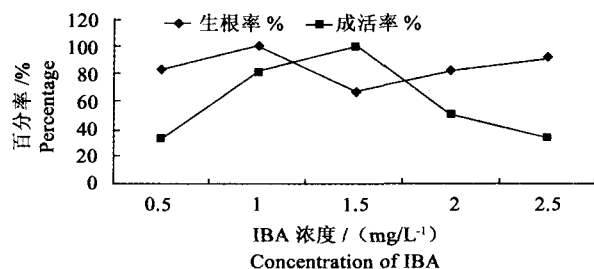


图6 生根炼苗状况
Fig.6 The condition of rooting and training

当红叶石楠植株在培养基表面时,其基部会生成气生根(图7)。气生根可以伸入培养基中吸收水分和养分供给植株生长。IBA 浓度为 2 mg/L 时观察到叶生根现象(图8)。



图7 气生根
Fig.7 The aerial root



图8 叶生根
Fig.8 The root from leaf

2.7 炼苗与移栽

按土与蛭石 2:1 的比例配制红叶石楠移栽基质。取 IBA 各浓度生根良好的试管苗 8~10 株进行炼苗。在温室中开口炼苗 5~7 d 后转移至移栽基质并用塑料薄膜保湿 10~15 d, 20 d 后统计成活率(图6)。其中 IBA 浓度为 1.5 mg/L⁻¹ 时其成活率可达 100%。综合考虑生根与炼苗状况诱导红叶石楠生根选用 1~1.5 mg/L⁻¹ 为宜。

4 讨论

初代培养发现,红叶石楠对 NAA 的浓度非常

敏感, NAA 浓度稍有提高, 出芽率就会有很大变化。当 NAA 的浓度达到 0.5 mg/L 时, 材料基本停止生长。这可能是与植物本身内源激素的含量有关^[4-5]。黄美娟^[1]等通过正交试验确定了红叶石楠‘红罗宾’增殖的较适宜培养基组成, 本实验通过正交试验初步探讨了激素对红叶石楠增高率的影响, 筛选出较适宜的培养基并发现 BA 与 IBA 互作在影响红叶石楠增高率方面达显著水平, 而 BA 与 NAA 的互作极小。由此可见, 在试验中要确定最佳的培养基配方一定要考虑到激素之间的相互作用。当红叶石楠生根培养基附加 1.5 g/L 的活性炭时根细且色发黄, 成活率低, 这与以往组织培养报道不同^[6]。另外, 本试验还发现具有气生根和叶生根的试管苗在适宜的栽培条件下也可以成活, 它们的发生机制及其发生特点还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 黄美娟, 邓小梅, 符树根, 等. 红叶石楠‘红罗宾’组培快繁技术研究[J]. 江西农业大学学报, 2003, 25(4): 604-607.
- [2] 段祖安, 齐建国, 张承庆. 石楠的组培快繁研究[J]. 山东林业科技, 2000(4): 19-21.
- [3] 李春喜, 王志和, 王文林. 生物统计学[M]. 2版. 北京: 科学出版社, 2000: 153-155.
- [4] KANNIAH RAJASEKARAN, MICH B, *et al.* Endogenous abscisic acid and indole-3-acetic acid and somatic embryogenesis in cultured leaf explants of *pennisetum purpureum* Schcu. Effects in vivo and in vitro of glyphosate, fluridone, and paclobutrazol[J]. Plant physiol, 1987(6): 84-47.
- [5] RAJASKARAN K, HEIN M B, DAVIS G C *et al.* Endogenesis growth regulators in leve and tissue cultures of *pennisetum purpureum* Schcum[J]. Plant physiol, 1987, 7: 130-133.
- [6] 宛成刚, 夏重立, 张启香, 等. 芦荟试管苗快繁技术研究[J]. 南京农专学报. 2001, 17(4): 19-22.

(编辑: 宗淑萍)